

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



(19) RU (11) 2090185 (13) C1

(51) 6 A 61 K 9/50

Комитет Российской Федерации
по патентам и товарным знакам

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**
к патенту Российской Федерации

1

(21) 94036608/14 (22) 30.09.94
(46) 20.09.97 Бюл. № 26
(72) Шкловская Н.И., Сохов С.Т., Федоренко О.М., Курбатова Г.Т., Верховомова И.А., Гулий Л.И., Чуйко А.А., Мельник Л.В., Баклан С.В.
(71) Ставропольская государственная медицинская академия
(73) Минаев Б.Д.
(56) Патент США N 4247406, кл. А 61 К 9/50, 1981.
(54) МИКРОКАПСУЛА

2

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к магниточувствительным носителям лекарственных и биологических веществ. Сущность изобретения заключается в том, что магниточувствительный носитель содержит высокодисперсный порошок железа и сшитый полиакриламид в качестве биосовместимой полимерной оболочки при следующем соотношении компонентов, мас. %: высокодисперсный порошок железа 90-95; сшитый полиакриламид 5-10. 1 табл.

ФОНД ЭКСПЕРТОВ

25 НОЯ 1997

ВНИИГПЭ

RU 2090185 C1

RU 2090185 C1

Изобретение относится к медицине, а именно к магниточувствительным носителям лекарственных и биологических веществ.

Доставка лекарственных препаратов к органам-мишеням в организме человека является одной из основных проблем химиотерапии. Одним из способов решения этой проблемы является использование магнито-чувствительных носителей лекарственных веществ, которые вводятся внутрь кровеносных сосудов, переносятся током крови и локализуются в предназначенном месте при помощи магнитного поля. Известны магнито-чувствительные и биологически совместимые наносферы или наночастицы, имеющие диаметр не превышающий 1500 нм, предназначенные для введения внутрь сосудов и локализации в определенном месте, которые состоят из углеводной кристаллической матрицы и магнитных частиц /заявка РСТ N WO 83/01738, кл. А 61 К 9/14, 1983 /. Углеводная кристаллическая матрица представляет собой крахмал, гликоген, декстран или их производные.

Общим существенным признаком известного и заявляемого технических решений является магнито-чувствительный носитель, состоящий из магнитного компонента и полимерной матрицы.

Однако известный носитель обладает недостаточно высокой гидролитической и ферментативной устойчивостью.

Известны также магнитные композитные наносферы на основе сетчатого органосилоконового полимера, которые состоят из ядра, представляющего собой намагничивающийся материал размером менее $300 \cdot 10^{-4}$ мкм, равномерно распределенный в сетке полисилсесквиоксана, содержащего более чем 2 винильные группы в молекуле и возможно ионогенную и/или невинильную активную группу и поверхностного слоя, представляющего собой сетчатый кремнийорганический полимер /заявка ЕПВ N 0435785, кл. А 16 К 9/50, 1991/.

Общими существенными признаками известного и заявляемого технических решений являются магнито-чувствительный носитель, состоящий из магнитного компонента и полимерной матрицы.

К причинам, препятствующим достижению технического результата, который может быть достигнут при помощи изобретения, относится то, что полимерная матрица известного носителя обладает недостаточно высокой биологической совместимостью.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому эффекту является

вводимый внутривенно биологически разрушаемый магнито-чувствительный носитель, содержащий магнитные частицы, покрытые полимерной матрицей /патент США N 4247406, кл. А 61 К 9/50, 1981/. В качестве магнитных частиц носитель содержит Fe_3O_4 , а в качестве полимерной оболочки - альбумин в количестве 5-350 мас.ч. Fe_3O_4 на 100 мас.ч. альбумина. Носитель обеспечивает относительно быстрое высвобождение лекарственного или биологически активного вещества в водной среде или крови и в случае, если на наносферы не воздействует протеолитический фермент, то носитель сохраняет свою целостность и активность до 48 ч.

Общими существенными признаками известного и заявляемого технических решений является магнито-чувствительный носитель, содержащий магнитный компонент и биосовместимую оболочку.

К причинам, препятствующим достижению технического результата, который может быть достигнут при помощи изобретения, относится то, что известный носитель обладает недостаточно высокой гидролитической и ферментативной стабильностью и магнитной восприимчивостью.

В основу изобретения положена задача разработать магнито-чувствительный носитель, который в результате включения в состав носителя магнитного компонента и биосовместимой полимерной оболочки определенного состава обеспечивал бы повышение гидролитической, ферментативной стабильности и магнитной восприимчивости.

Поставленная задача достигается тем, что известный магнито-чувствительный носитель, включающий магнитный компонент и биосовместимую полимерную оболочку, согласно изобретению в качестве магнитного компонента содержит высокодисперсный порошок железа, а в качестве биосовместимой полимерной оболочки - сшитый полиакриламид при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Высокодисперсный порошок железа	90 - 95
Сшитый полиакриламид	5 - 10.

Таким образом, выявляемая совокупность существенных признаков, а именно: содержание в составе магнито-чувствительного носителя в качестве биосовместимой полимерной оболочки сшитого полиакриламида при определенном соотношении компонентов, обеспечивает достижение технического результата, что свидетельствует о наличии причинно-следственной связи между совокуп-

ностью существенных признаков и достигаемым техническим результатом.

Для получения магниточувствительного носителя берут следующие реагенты: акриламид /ч/ $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$ МРТУ 6-09-356-63; N,N-метилен-бис-акриламид /ч/ $\text{CH}_2(\text{NHOCCH}=\text{CH}_2)_2$ ТУ 6-09-195-70; глицерин $\text{HOCH}_2\text{CHONCH}_2\text{OH}$ /ч.д.а./ ГОСТ 6259-52; этиловый спирт $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ТУ ИРЕА 20-66; вода дистиллированная МРТУ 6-09-688-63; рибофлавин - витамин B₂, продукт фирмы "Chemical Company Sigma", США.

Частицы ВДПЖ получали по методике, описанной в статье О.М.Мikhailik, V.I.Povstugar et.al. "Surface structure of Finely Dispersed Iron Powders. 1. Formation of Stabilizing Coating." - 52, 1991, p.315-324, путем электроосаждения из водного раствора сульфата железа /II/ в присутствии олеиновой кислоты, растворенной в органическом растворителе, в качестве стабилизатора. Магниточувствительный носитель получали методом фотоинициированной полимеризации акриламида на поверхности частиц высокодисперсного порошка железа.

На первой стадии производили адсорбцию фотоинициатора рибофлавина поверхности частиц ВДПЖ. Для этого вначале готовили водный раствор фотоинициатора $0,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Затем проводили адсорбцию рибофлавина на поверхности частиц путем встряхивания их с водным раствором рибофлавина. Количество адсорбированного рибофлавина определяли по исследованию контактного раствора методом УФ-спектроскопии, предварительно построив график зависимости оптической плотности полосы 440 нм от концентрации раствора. Судя по результатам анализа, содержание фотоинициатора на поверхности частиц соответствует 1,5-2,0 монослоя. Затем ВДПЖ с адсорбированным на поверхности инициатором вводили в 2%-ный раствор акриламида в глицерине с добавлением сшивающего агента - N,N-метилен-бис-акриламида, который /раствор/ предварительно помещали в кварцевый реактор, снабженный мешалкой. Синтез проводили при непрерывном перемешивании и облучении реакционной смеси мощным источником видимого света в течение 2-3 ч при температуре 25°C.

Оценку гидролитической и ферментативной устойчивости полученных частиц магниточувствительного носителя проводили следующим образом. Брали навески по 1 г частиц магниточувствительного носителя, помещали в стеклянные колбы, содержащие 50 мл воды, и встряхивали в течение 24 ч

при комнатной температуре. Затем отделяли контактную жидкость от частиц носителя, которые высушивали при температуре 60°C в течение 6 ч.

Ферментативную устойчивость оценивали так же, как и гидролитическую устойчивость, за исключением того, что в водную суспензию частиц магниточувствительного носителя добавляли фермент трипсин /10 мг/. Трипсин является протеолитическим ферментом, который может расщеплять пептидные связи белка, гидролизует сложноэфирные и амидные связи.

Гидролитическую и ферментативную устойчивость образцов магниточувствительного носителя оценивали по снижению содержания углерода в образцах после проведения испытаний по сравнению с образцами магниточувствительного носителя до проведения испытаний /100%/.

Коэрцитивную силу частиц магниточувствительного носителя определяли с помощью коэрцитиметра согласно МИ 88 УССР 228-045-001-88. В основу измерения коэрцитивной силы положен нулевой метод, при котором коэрцитивную силу испытуемых частиц определяли как величину, пропорциональную току, размагничивающего предварительно намагниченные частицы до состояния нулевой намагниченности.

Пример 1. 3,7 мг рибофлавина предварительно растворяли в 100 мл дистиллированной воды. Полученный раствор помещали в коническую колбу емкостью 500 мл, в которую затем внесли 1 г ВДПЖ. Полученную суспензию встряхивали на лабораторном вибраторе в течение 12 ч при комнатной температуре. Затем порошок ВДПЖ отделяли от контактного раствора на центрифуге. Раствор акриламида в глицерине готовили растворением 2 г акриламида и 20 мг метилен-бис-акриламида в 100 мл глицерина. Полученный раствор помещали в кварцевый реактор, снабженный мешалкой, емкостью 250 мл, в который затем помещали ВДПЖ с адсорбированным на поверхности рибофлавином. Суспензию непрерывно перемешивали и облучали лампой видимого света в течение 2,5 ч. Порошок ВДПЖ отделяли от раствора на центрифуге, промывали водно-спиртовым раствором и высушивали при температуре 60°C в течение 6 ч. Элементный состав частиц магниточувствительного носителя определяли на С,Н,N-анализаторе фирмы "Perkin Elmer" /США/. Коэрцитивную силу, гидролитическую и ферментативную устойчивость определяли по описанной выше методике. Полученные данные приведены в таблице.

Примеры 2-5. Поступали аналогично примеру 1 за исключением того, что меняли соотношение исходных компонентов. Полученные данные элементного состава, гидролитической и ферментативной устойчивости приведены в таблице. Из данных таблицы следует, что в заявляемых интервалах поставленная задача достигается /примеры 2-3/. Магнитная восприимчивость, гидролитическая и ферментативная устойчивость выше, чем по прототипу. Использование ВДПЖ в количестве ниже заявляемого интервала, а сшитого полиакриламида в количестве выше заявляемого интервала /пример 4/ приводит к снижению магнитной восприимчивости частиц носителя. Снижение содержания сшитого полиакриламида и повышение содержания ВДПЖ в частицах носителя приводит к снижению ферментативной устойчивости частиц магниточувствительного носителя /пример 5/.

Пример 6 /по прототипу/. 40 мг частиц Fe_3O_4 /Ю.В.Карякин, И.И.Ангелов. Чистые химические вещества. М.:Химия, 1974, с. 100/ и 20 мг бычьего альбумина /ТУ 64-2-278-79/ растворяли в 100 мл воды в стакане емкостью 250 мл. Суспензию тщательно перемешивали для равномерного распределения частиц Fe_3O_4 в растворе альбумина. Затем в стакан добавляли 30 мл хлопкового масла, чтобы получить водно-

масляную эмульсию, которую интенсивно перемешивали для диспергирования водной и масляной фаз. Полученную эмульсию гомогенизировали с помощью ультразвуковой обработки в течение 10 мин. Затем масло удаляли путем 4-кратной промывки в 60 мл диэтилового эфира с отделением его на центрифуге при 2000 об/мин в течение 30 мин. Свободные от масла частицы смешивали с 1%-ным водным раствором глутарового альдегида /продукт компании Sigma, США/ из расчета 1 мл водного раствора глутарового альдегида на 10 мг частиц. Количество альбумина, сшитого на поверхности магнитных частиц, определяли по результатам элементного анализа. Оценку гидролитической, ферментативной устойчивости, а также магнитной восприимчивости проводили по описанной выше методике. Полученные результаты приведены в примере 6 таблицы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что заявляемый магниточувствительный носитель обладает достаточно высокой гидролитической и ферментативной устойчивостью, проявляет высокую магнитную восприимчивость, что ускоряет его доставку в предназначенное место живого организма и пролонгирует высвобождение лекарственного средства или биологически активного вещества.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Микрокапсула, содержащая магнитный компонент, покрытый оболочкой из полимера, отличающаяся тем, что в качестве магнитного компонента она содержит высокодисперсный порошок железа, а в качестве полимера - сшитый полиакриламид при

следующем соотношении компонентов, мас. %:

Высокодисперсный порошок железа	90 - 95
Сшитый полиакриламид	5 - 10

Состав, магнитные характеристики, гидролитическая и ферментативная устойчивость частиц магниточувствительного носителя

№ п/п	Содержание компонентов, мас. %		Корр- цитив- ная сила, Э	Элементный состав биосовместимой полимерной оболочки, мас. %												Содержание углерода, мас. % (до испытаний 100%)			
	ВДПЖ	сшитый полиак- риламид		До испытаний				После испытаний на гидролитическую устойчивость				После испытаний на фермент. устойчи- вость						После испыта- ний на гидроли- тическую устойчивость	Послу испыта- ний на фермен- тативную устойчивость
				C	H	II	O	C	H	II	C	H	II	C	H				
1	93,52	6,48	1170,0	3,28	0,46	1,28	1,46	5,05	0,43	1,19	2,86	0,40	1,11	92,95	87,40				
2	90,00	10,00	1120,6	5,08	0,70	1,97	2,25	4,80	0,66	1,87	4,64	0,64	0,18	94,80	91,54				
3	95,00	5,00	1197,0	2,54	0,35	0,98	1,13	2,23	0,31	0,86	2,09	0,29	0,81	88,25	85,50				
4	85,80	14,20	780,0	7,20	1,0	2,80	3,20	6,94	0,96	2,70	6,83	0,95	0,24	96,40	94,82				
5	97,03	2,97	1270,0	1,51	0,21	0,58	0,67	1,26	0,18	0,48	1,19	0,17	0,45	83,50	78,85				
6п	F ₃ O ₄	Альбумин	800,0	13,5	1,78	4,20	5,60	12,22	1,61	3,80	10,84	1,43	3,37	90,52	80,50				
	74,53															25,47			